

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

REC'D 28 SEP 2004

WIPO

PCT

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts Hec-008 PCT	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/PEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE 03/03028	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 12.09.2003	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 12.09.2002
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/11		
Anmelder AVONTEC GMBH et.al.		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.



2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 9 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

☐ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Bescheids
- II ☐ Priorität
- III ☒ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☒ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Regel 66.2 a)ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 17.03.2004	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 24.09.2004
Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Ulbrecht, M Tel. +49 89 2399-7710 

I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):

Beschreibung, Seiten

1-31 in der ursprünglich eingereichten Fassung

Sequenzen, Seiten

1-23 in der ursprünglich eingereichten Fassung

Ansprüche, Nr.

1-10 in der ursprünglich eingereichten Fassung

Zeichnungen, Blätter

1/8-8/8 in der ursprünglich eingereichten Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um:

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☒ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☒ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☒ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:

- ☐ Ansprüche, Nr.:
☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen.)

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

1. Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

- ☐ die gesamte internationale Anmeldung,
☒ Ansprüche Nr. 1-3 (teilweise), 4-10 (vollständig)

Begründung:

- ☐ Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht (*genaue Angaben*):
- ☐ Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen (*machen Sie bitte nachstehend genaue Angaben*) oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):
- ☐ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.
- ☒ Für die obengenannten Ansprüche Nr. 1-3 (teilweise), 4-10 (vollständig) wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.

2. Eine sinnvolle internationale vorläufige Prüfung kann nicht durchgeführt werden, weil das Protokoll der Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenzen nicht dem in Anlage C der Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard entspricht:

- ☐ Die schriftliche Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.
☐ Die computerlesbare Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

IV. Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung

1. Auf die Aufforderung zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren hat der Anmelder:

- ☐ die Ansprüche eingeschränkt.
☐ zusätzliche Gebühren entrichtet.
☐ zusätzliche Gebühren unter Widerspruch entrichtet.

- ☒ weder die Ansprüche eingeschränkt noch zusätzliche Gebühren entrichtet.
2. ☐ Die Behörde hat festgestellt, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nicht erfüllt ist, und hat gemäß Regel 68.1 beschlossen, den Anmelder nicht zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren aufzufordern.
3. Die Behörde ist der Auffassung, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nach den Regeln 13.1, 13.2 und 13.3
- ☐ erfüllt ist.
- ☐ aus folgenden Gründen nicht erfüllt ist:
4. Daher wurde zur Erstellung dieses Berichts eine internationale vorläufige Prüfung für folgende Teile der internationalen Anmeldung durchgeführt:
- ☐ alle Teile.
- ☐ die Teile, die sich auf die Ansprüche Nr. beziehen.

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung
- | | |
|--------------------------------|--------------------|
| Neuheit (N) | Ja: Ansprüche 1-3 |
| | Nein: Ansprüche |
| Erfinderische Tätigkeit (IS) | Ja: Ansprüche 2,3 |
| | Nein: Ansprüche 1 |
| Gewerbliche Anwendbarkeit (IA) | Ja: Ansprüche: 1-3 |
| | Nein: Ansprüche: |

2. Unterlagen und Erklärungen:

siehe Beiblatt

Es wird auf folgende Dokumente verwiesen:

- D1: Miyamoto Y. et al.: 'Replication protein A1 reduces transcription of the endothelial nitric oxide synthase gene containing a -786T→C mutation associated with coronary spastic angina' HUMAN MOLECULAR GENETICS, Bd. 9, Nr. 18, 1. November 2000, Seiten 2629-2637
- D2: WO 01 53537 A (Moskowitz David W; DZGENES LLC (US)) 26. Juli 2001
- D3: Nakayama M. et al.: 'T-786-C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm' CIRCULATION, Bd. 99, 1999, Seiten 2684-2870
- D4: CATTARUZZA M ET AL: "The -786C variant of the human endothelial nitric oxide synthase gene promoter is a risk factor for coronary heart disease" PFLUEGERS ARCHIV EUROPEAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY, Bd. 443, Nr. Supplement 1, März 2002 (2002-03), Seite S255, 81st Annual Joint Meeting of the Physiological Society, the Scandinavian Physiological Society and the ;Tuebingen, Germany; March 15-19, 2002
- D5: DÖTSCH J ET AL: "Increase of endothelial nitric oxide synthase and endothelin-1 mRNA expression in human placenta during gestation." EUROPEAN JOURNAL OF OBSTETRICS, GYNECOLOGY, AND REPRODUCTIVE BIOLOGY. IRELAND AUG 2001, Bd. 97, Nr. 2, August 2001 (2001-08), Seiten 163-167

zu Punkt III:

Die ISA hat aufgrund mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung lediglich die erste Erfindung recherchiert (Ansprüche 1-3 (jeweils teilweise)). Es wurden keine weiteren Recherchegebühren entrichtet und folglich keine weiteren Recherchen durchgeführt. Die Prüfung bezieht sich daher lediglich auf die recherchierten Gegenstände (R. 66.1e) PCT).

zu Punkt IV:

- 1.1 Diese Behörde hat festgestellt, daß die internationale Anmeldung mehrere Erfindungen oder Gruppen von Erfindungen enthält, die nicht durch eine einzige allgemeine erfinderische Idee verbunden sind (R. 13.1 PCT), nämlich:

Erfindung 1 (Ansprüche 1-3 (jeweils teilweise)):

Decoy-Oligonukleotide mit einer Nukleinsäuresequenz gemäß SEQ ID Nos 1 oder

2. Besagte Oligonukleotide als Arzneimittel. Besagte Oligonukleotide zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prävention oder Therapie einer der in Anspruch 3 genannten Krankheiten.

Erfindungen 2-17 (Ansprüche (jeweils 1-3 teilweise)):

Wie Erfindung 1 sich jedoch jeweils auf die nächst folgenden zwei SEQ ID Nos. der SEQ ID Nos. 3-34 beziehend.

Erfindung 18 (Ansprüche 4-9 (jeweils vollständig)):

Verfahren zur Diagnose einer -786 C/T-Varianz im eNOS-Gen mittels RFLP- oder FRET-Analyse. Kit zur Durchführung besagter Verfahren.

Erfindung 19 (Anspruch 10 (teilweise)):

DNA-Oligonukleotid mit einer Nukleinsäuresequenz gemäß SEQ ID No. 35.

Erfindungen 20-30 (Anspruch 10 (teilweise)):

Wie Erfindung 19 sich jedoch jeweils auf eine der SEQ ID Nos. 36-40 bzw. 56-61 beziehend.

1.2 Die Gründe dafür sind die folgenden.

- a) Das einzige technische Merkmal, das alle Erfindungen gemeinsam haben ist der Bezug zum humanen eNOS-Gen insbesondere zu dessen T-786C-Polymorphismus. Erfindungen 1-17 beziehen sich auf Decoy-Oligonukleotide, die besagten Polymorphismus enthalten und somit allelspezifische Oligonukleotide darstellen. Erfindungen 18 bezieht sich auf den Nachweis des besagten Polymorphismus. Erfindungen 19-30 beziehen sich auf Oligonukleotide, die mit der mRNA oder der Promotersequenz des humanen eNOS-Gens hybridisieren.
- b) D1 offenbart doppelsträngige Oligonukleotide, die jeweils ein Allel des T-786C-eNOS-Polymorphismus repräsentieren, wobei das Oligonukleotid, das dem C-Allel entspricht spezifisch RPA1 bindet. Es wird außerdem gezeigt, dass die RPA1-Expression mit transkriptioneller Hypoaktivität des -786C-eNOS-Allels korreliert. Die doppelsträngigen Oligonukleotide gemäß D1 sind Decoy-Oligonukleotide im engeren Sinne. D2 offenbart den T-786C-eNOS-Polymorphismus sowie Verfahren zu seinem Nachweis. Offenbart werden auch einzelsträngige Oligonukleotide mit Spezifität für das humane

eNOS-Gen. Diese Oligonukleotide enthalten u.a. den T-786C-Polymorphismus und sind für eines seiner Allele spezifisch. Da die Oligonukleotide gemäß Anspruch 1 sowohl doppel- als auch einzelsträngig sein können, sind die Oligonukleotide gemäß D2 aufgrund ihrer Allelspezifität Decoy-Oligonukleotide im Sinne des Anspruchs 1. D3 offenbart den T-786C-eNOS-Polymorphismus sowie Verfahren zu seinem Nachweis mittels PCR, unter Verwendung von eNOS-spezifischen Primern und allelspezifischen Oligonukleotidproben. Aus oben genannten Gründen sind besagte allelspezifische Oligonukleotide Decoy-Oligonukleotide im Sinne des Anspruchs 1. D4 offenbart ein Verfahren zum Nachweis des T-786C-eNOS-Polymorphismus mittels RFLP. D5 lehrt ein quantitatives Nachweisverfahren für eNOS-mRNA mittels TaqMan-Echtzeit-PCR, unter Verwendung von Oligonukleotiden, die an die mRNA des humanen eNOS-Gens binden.

- c) Im Lichte des in D1-D5 repräsentierten Standes der Technik können die, der vorliegenden Anmeldung zugrunde liegenden technischen Probleme definiert werden, als 1) die Bereitstellung weiterer Decoy-Oligonukleotide mit Spezifität für den T-786C-Polymorphismus (Erfindungen 1-17), 2) die Bereitstellung weiterer Verfahren zum Nachweis des T-786C-eNOS-Polymorphismus sowie eines Kits zur Durchführung besagter Verfahren und 3) die Bereitstellung weiterer eNOS-spezifischer Oligonukleotide.
- d) Jede der oben aufgeführten Erfindungen stellt eine unabhängige Lösung in Bezug auf eines, der vorliegenden Anmeldung zugrunde liegenden Probleme dar. Die Lösung 1 stellt Decoy-Oligonukleotide gemäß den SEQ ID Nos. 1 und 2 zur Verfügung. Lösungen 2-17 stellen Decoy-Oligonukleotide, jeweils gekennzeichnet durch zwei aufeinander folgende SEQ ID Nos. aus den SEQ ID Nos. 3-34 zur Verfügung. Lösung 18 stellt ein Nachweisverfahren für den T-786C-eNOS-Polymorphismus mittels RFLP- bzw. FRET-Analyse von PCR-Amplifikaten sowie einen Kit zur Durchführung dieser Verfahren zur Verfügung. Lösungen 19-30 stellen jeweils ein eNOS-spezifisches Oligonukleotid gemäß einer der SEQ ID Nos. 35-40 sowie 56-61 zur Verfügung.
- e) Angesichts der Tatsache, dass der T-786C-eNOS-Polymorphismus, Verfahren zu dessen Nachweis, Oligonukleotide mit Spezifität für den Promoter und die mRNA des humanen eNOS-Gens sowie Decoy-Oligonukleotide mit Spezifität für besagten Polymorphismus bereits aus dem Stand der Technik bekannt sind, da weiters die Oligonukleotide der Lösungen 1-17 und 19-30 sich in dem vom Stand

der Technik abweichenden Teil ihrer Primärstruktur stark unterscheiden, und da keine anderen gemeinsamen technischen Merkmale identifiziert werden können, die im Lichte des Standes der Technik als besondere gemeinsame technische Merkmale der oben genannten Lösungen betrachtet werden können, ist die IPEA der Auffassung, dass den 30, in der vorliegenden Anmeldung enthaltenen Lösungen keine alleinige erfinderische Idee im Sinne der R. 13.1 PCT zugrunde liegt. Daher liegt mangelnde Einheitlichkeit vor und es ergeben sich die verschiedenen oben aufgelisteten Erfindungen.

f) Die ISA hat die erste Erfindung recherchiert.

zu Punkt V:

1. Die Gegenstände der Ansprüche 1-3 sind neu, da keines der Dokumente des Standes der Technik ein Oligonukleotid gemäß SEQ ID No. 1 bzw. 2 vorschlägt.
- 2.1 D1 offenbart ein doppelsträngiges Oligonukleotid, M1, das dem -786C-Allel des T-786C-eNOS-Polymorphismus entspricht (S. 2635, li. Sp., Abs. 5; Abb. 1c). Dieses Oligonukleotid bindet in EMSA-Versuchen den Repressor RPA1. Seine Länge entspricht mit 31 Nukleotiden der Länge von Decoy-Oligonukleotiden gemäß vorliegender Anmeldung. Aufgrund seiner Bindung des Repressors RPA1 und aufgrund der Tatsache, dass es die polymorphe Position des T-786C-eNOS-Polymorphismus enthält ist besagtes M1-Oligonukleotid ein Decoy-Oligonukleotid im Sinne der vorliegenden Anmeldung. Die Decoy-Oligonukleotide gemäß Anspruch 1 unterscheiden sich von M1 in ihrer Sequenz. Die technische Aufgabe besteht daher in der Bereitstellung eines alternativen RPA1-bindenden Oligonukleotids. Das Oligonukleotid gemäß Anspruch 1 ist jedoch lediglich eines von vielen möglichen Alternativen, das der Fachmann wählen würde, dessen Auswahl jedoch keine erfinderische Tätigkeit beinhaltet, da es keinen überraschenden Effekt bewirkt (Art. 33(3) PCT).

D2 (SEQ ID Nos. 9-12) und D3 (S. 2865, re. Sp., Abs. 3) offenbaren Oligonukleotide mit Spezifität für das -786C-Allel des T-786C-eNOS-Polymorphismus. Da Anspruch 1 sich auf einzel- und doppelsträngige Oligonukleotide zu beziehen scheint, kann o.g. Argumentation auch ausgehend von D2 oder D3 angewendet werden, um die erfinderische Tätigkeit des Anspruchs 1 anzugreifen (Art. 33(3) PCT).

2.2 Der Gegenstand des Anspruchs 2 unterscheidet sich von D1 durch die Oligonukleotidsequenz und die Verwendung des Oligonukleotids als Arzneimittel. Das technische Problem besteht in der Bereitstellung eines alternativen Oligonukleotids zur Verwendung als Arzneimittel. Während das Oligonukleotid nach obiger Argumentation nicht per se erfinderisch ist, legt jedoch kein Dokument des Standes der Technik eine Verwendung dieses Oligonukleotids als Arzneimittel nahe (Art. 33(3) PCT).

2.3 Eine ähnliche Argumentation trifft auch auf Anspruch 3 zu (Art. 33(3) PCT).

3. Die Gegenstände der Ansprüche 1-3 erscheinen industriell anwendbar (Art. 33(4) PCT).

4. Die Doppelsträngigkeit scheint ein essentielles Merkmal der Decoy-Oligonukleotide zu sein. Da der unabhängige Anspruch 1 dieses Merkmal nicht enthält, entspricht er nicht dem Erfordernis des Art. 6 PCT in Verbindung mit R. 6.3(b) PCT, dass jeder unabhängige Anspruch alle technischen Merkmale enthalten muß, die für die Definition der Erfindung wesentlich sind.